

Clinique, pathogénie et épidémiologie des infections à *Escherichia coli* producteurs de Shiga toxines (STEC)

Clinical, pathogenic and epidemiological data on Shiga toxin-producing Escherichia coli infections

Par Christine VERNZOY-ROZAND⁽¹⁾⁽²⁾
(mémoire présenté le 18 mars 2004)

RÉSUMÉ

Les *Escherichia coli* producteurs de Shiga toxines sont actuellement reconnus comme étant des agents pathogènes importants en santé publique. Ils sont à l'origine d'infections variées pouvant aller d'une simple diarrhée à des manifestations gravissimes telles qu'une colite hémorragique, un syndrome hémolytique et urémique (SHU) ou un purpura thrombocytopenique thrombotique. Chaque année, un peu moins d'une centaine de SHU sont dénombrés chez les enfants de moins de 15 ans en France. La transmission à l'homme se fait essentiellement par ingestion de certains aliments, à savoir : la viande de bœuf insuffisamment cuite, le lait cru et les fromages au lait cru de vache, l'eau non traitée... Les bovins constituent un important réservoir de cette bactérie. Les mesures prises en Santé Publique incluent celles déjà mises en place pour contrôler les autres infections gastro-intestinales. L'hygiène générale basée sur la méthode HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) de bonnes conditions de stockage, de chauffage des denrées crues, de manipulation sans contamination croisée, devrait être strictement maîtrisée.

Mots-clés : *Escherichia coli* O157 :H7, verotoxine, syndrome hémolytique.

SUMMARY

Shiga toxin-producing E. coli (STEC) are now recognised as important pathogens in terms of public health. They cause various infections ranging from a simple diarrhea to life-threatening manifestations such as haemorrhagic colitis, haemolytic uremic syndrome, or thrombotic thrombocytopenic purpura. Almost one hundred cases of haemolytic uremic syndrome are reported each year in children under 15 years old in France. Transmission to man is mainly foodborne (e.g. under-cooked beef products, raw cow's milk and cheeses made from raw cow's milk, and untreated water...). Studies to date indicate that cattle are an important reservoir of the bacteria. Public health measures include those already implemented to control other gastro-intestinal infections. General hygiene measures based on the HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) system defining good storage conditions, heating requirements of raw food, and handling techniques to avoid cross contamination, should be strictly implemented.

Key words: *E. coli* O157 :H7, verotoxins, Shiga-like toxins, haemolytic uremic syndrome, bloody diarrhea, food hygiene, foodborne infection.

(1) Professeur, Expert au Comité Microbiologique de l'AFSSA, Diplômée de l'European College of Veterinary Public Health, École Nationale Vétérinaire de Lyon.
(2) Pour réaliser cette synthèse, l'auteur s'est inspirée du document « Bilan des connaissances relatives aux *E. coli* producteurs de shiga toxines (STEC) » publié en avril 2003 par l'AFSSA (accessible sur le site internet de l'AFSSA <http://www.afssa.fr/Ftp/Afssa/16054-22454.pdf>) et rédigé par le groupe de travail (STEC). Ce groupe de travail présidé par le Professeur Christine Vernzozy-Rozand comprenait les scientifiques suivants : M. Bruno ANDRAL, Mme Anne BRISABOIS, M. Hubert BRUGERE, Mme Marie-Laure DELIGNETTE-MULLER, Mme Emmanuelle ESPIE, M. Patrick FACH, Mme Ines GIOVANNACCI, Mme Francine GRIMONT, M. Vincent LECLERC, Mme Valérie LIVRELLI, Mme Patricia MARIANI-KURKDJIAN, M. Eric OSWALD, M. Pierre PARDON et Madame Servane ROZE.

Escherichia coli est considéré comme un hôte normal de la microflore digestive de l'homme et de nombreuses espèces animales. À ce titre *E. coli*, et plus largement les coliformes thermotolérants, sont recherchés dans les aliments comme indicateurs de contamination fécale, leur présence fournissant une indication sur l'éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive, notamment les salmonelles. En outre certaines souches pathogènes d'*E. coli* sont connues des médecins comme des agents responsables de la gastro-entérite infantile ou de la fameuse « diarrhée du voyageur », souvent d'origine hydrique. Les principaux pathotypes intestinaux, décrits en fonction des signes cliniques engendrés et des facteurs de pathogénicité exprimés, sont : les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), les *E. coli* entérotoxigènes (EPEC), les *E. coli* entéroaggrégatifs (EAgg), les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) et les *E. coli* entéroinvasifs (EIEC).

En 1982, aux États-Unis (dans l'Oregon puis trois mois plus tard dans le Michigan), deux épidémies de colites hémorragiques sévères, nécessitant une hospitalisation de 70 % des malades, apparurent après la consommation de hamburgers insuffisamment cuits provenant d'établissements d'une même chaîne de restauration rapide. Les analyses mises en œuvre, d'une part sur les selles des patients et d'autre part sur de la viande de bœuf hachée congelée provenant du même lot que les hamburgers incriminés, mirent en évidence une souche de *Escherichia coli* d'un sérotype particulier O157:H7. Peu de temps après, une étude menée sur les selles d'enfants atteints par un syndrome hémolytique et urémique (SHU) montra la présence d'une toxine cytotoxique pour les cultures cellulaires Vero (cellule rénale du singe vert d'Afrique), d'où son nom de « vérotoxine » ; elle est également dénommée « Shiga toxine » du fait de sa grande similitude avec une toxine produite par *Shigella dysenteriae* (KARMALI *et al.*, 1983; KONOWALCHUK *et al.*, 1977).

E. coli O157:H7 est le principal sérotype d'*E. coli* responsable de pathologie chez l'homme. Les souches dites STEC (Shiga-toxin-Producing *E. coli*) sont toutes les souches d'*Escherichia coli* ayant les gènes stx codant les Shiga-like toxines ou vérotoxines. La dénomination VTEC (verotoxin-producing *E. coli*) a été couramment utilisée jusqu'alors ; aujourd'hui, la convention internationale de dénomination de ces pathogènes recommande le terme STEC. Les souches isolées chez les malades sont appelées EHEC.

Depuis 1982, de nombreux autres cas d'infections humaines consécutives à la consommation d'aliments contaminés par des STEC ont été rapportés à travers le monde.

Il est habituel de qualifier ces pathogènes d'émergents, alors même que *E. coli* a été une des premières espèces bactériennes étudiées. L'émergence des STEC est à associer à la double circonstance suivante : la description des SHU est assez récente (1950), de même que celle des épidémies liées à *E. coli* O157:H7 (1980). Les habitudes alimentaires de nos concitoyens ont évolué vers une augmentation du nombre de repas pris hors foyer, et notamment vers des habitudes alimentaires nouvelles (moindre cuis-

son de certains aliments par exemple) et constituent certainement une circonstance favorable à l'explosion des cas d'infections humaines liées aux STEC.

• CLINIQUE HUMAINE ET ANIMALE

Clinique humaine

L'infection à STEC peut revêtir plusieurs aspects dont le plus fréquent est la colite hémorragique. Le tableau clinique peut cependant se compliquer d'un SHU, particulièrement chez l'enfant et le sujet âgé, ou d'un purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT) chez l'adulte (TARR, 1995). Ces différentes entités cliniques seront présentées successivement sous l'angle symptomatologique, diagnostique et thérapeutique.

Le SHU et le PTT sont considérés comme un ensemble de manifestations de microangiopathie thrombotique. Ces affections ont en commun des lésions des cellules endothéliales de la microcirculation, suivies d'un gonflement cellulaire, d'adhérence des plaquettes et de thrombose. Les manifestations sont déterminées par le lit vasculaire le plus atteint : celui des reins dans le SHU, celui du cerveau dans le PTT. Ces deux affections sont caractérisées par une microangiopathie sévère, ainsi que par une réduction marquée du taux des plaquettes et du taux d'hémoglobine.

Les évolutions cliniques après ingestion de STEC sont indiquées dans la [figure 1](#).

Le diagnostic microbiologique des infections à STEC est difficile, en particulier au moment du SHU où la diarrhée peut être absente, et il est alors nécessaire de pratiquer un écouvillonnage rectal. Le diagnostic repose, d'une part sur la mise en évidence de STEC et/ou des gènes de virulence dans les selles ou dans l'écouvillonnage rectal et d'autre part, sur l'augmentation du titre sérique des anticorps anti-lipopolysaccharide.

Colite hémorragique

Principale manifestation clinique de l'infection à *Escherichia coli* O157:H7, la colite hémorragique est caractérisée par des crampes abdominales, une diarrhée initialement aqueuse puis sanglante, chez un patient généralement apyrétique ou subfébrile. La diarrhée sanglante est retrouvée dans 90% des cas diagnostiqués (TARR, 1995).

La période d'incubation, de 2 à 10 jours, est plus longue que celle observée pour les autres diarrhées infectieuses (GRIFFIN et TAUXE, 1991). L'évolution est généralement spontanément favorable en quelques jours. Des nausées, des vomissements, des céphalées et des frissons ont également été rapportés mais leur fréquence est plus faible.

Le taux d'hospitalisation au cours de la colite hémorragique varie de 3 à 82 %. Il n'existe pas de traitement spécifique ; le traitement est donc symptomatique.

Les STEC ne représentent pas les seuls micro-organismes potentiellement responsables de diarrhées san-

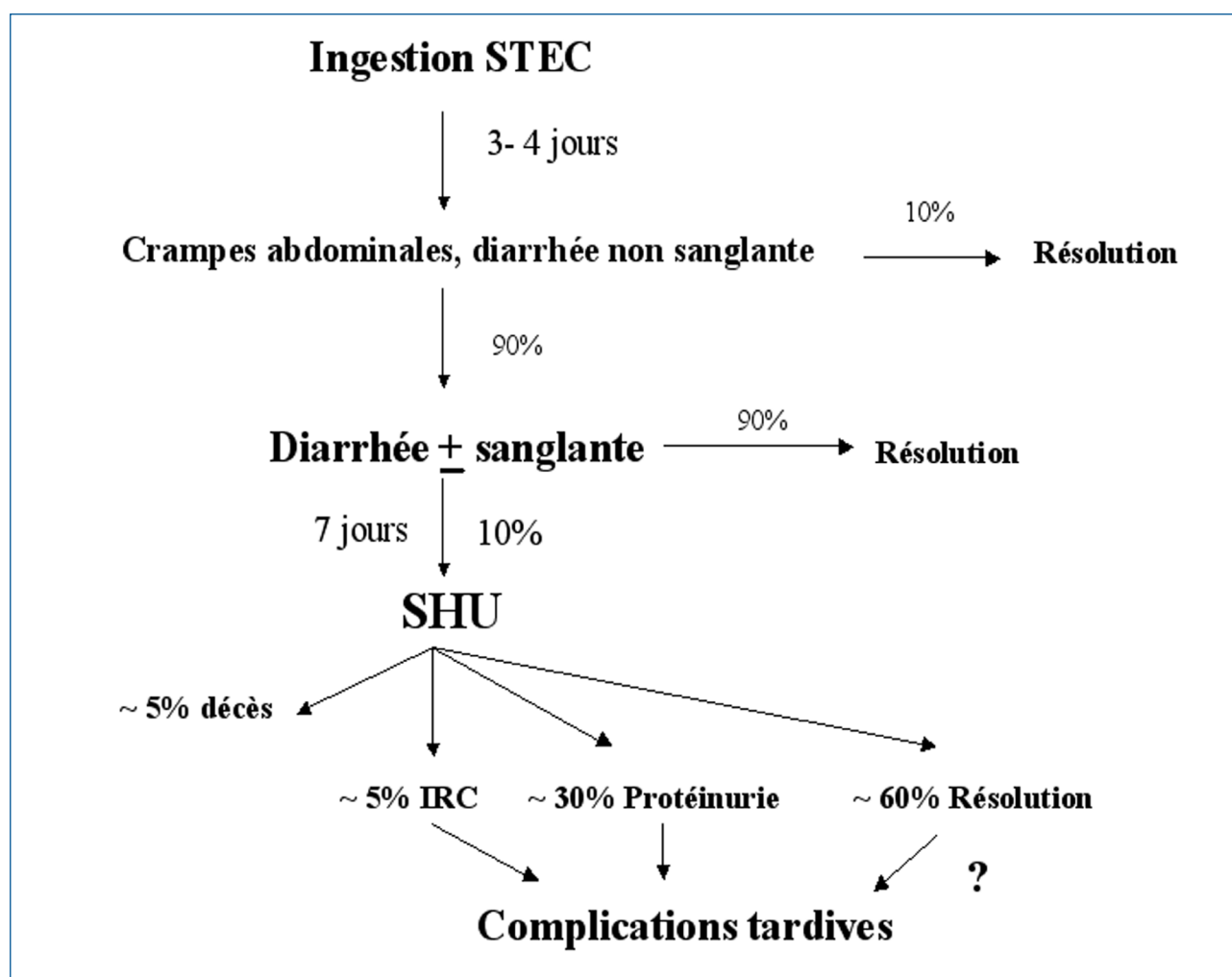


Figure 1 : Évolutions cliniques après ingestion de STEC(HEUVELINK, 2000). (IRC : insuffisance rénale chronique).

glantes. Des bactéries telles que *Campylobacter* sp., *Shigella* sp., *Clostridium difficile*, certains virus et certains parasites (amibes) peuvent également être incriminés dans l'étiologie des diarrhées sanglantes.

Syndrome hémolytique et urémique (SHU)

Décrit pour la première fois en 1955 par GASSER, le SHU typique touche surtout l'enfant de moins de 3 ans et survient brutalement après une diarrhée prodromique sanglante dans la majorité des cas. Ce n'est qu'en 1983 que KARMALI *et al.* établissent la relation entre une infection intestinale à STEC et la survenue d'un SHU. L'apparition du SHU se fait en moyenne une semaine après le début des symptômes digestifs. Deux à 7 % des patients atteints d'une infection intestinale à *E. coli* O157:H7 développeront un SHU. Cette incidence est supérieure chez l'enfant et les personnes âgées : 10 % chez les enfants de moins de 10 ans et 10 à 20 % chez les sujets âgés (GRIFFIN et TAUXE, 1991).

Le SHU typique, ou SHU post-diarrhée, représente environ 90 % des cas de SHU de l'enfant et constitue la première cause d'insuffisance rénale du nourrisson. Il survient surtout l'été. Son début est brutal. Le pronostic rénal

est favorable dans environ les 2/3 des cas (LOIRAT *et al.*, 1992). Il correspond à des lésions de microangiopathie thrombotique glomérulaire ou de nécrose corticale. Il est caractérisé par une triade de symptômes associant une anémie hémolytique avec schizocytose, une thrombopénie et une insuffisance rénale.

La mise en route précoce d'un traitement symptomatique rigoureux a une importance capitale et permet que le taux de mortalité actuel demeure inférieur à 5 %. Les signes qui doivent faire penser au diagnostic de SHU chez un enfant ayant une diarrhée sont l'apparition d'une somnolence, d'une irritabilité, d'une pâleur, éventuellement avec un ictère discret dû à l'hémolyse, parfois des pétéchies dues à la thrombopénie, une diminution du volume d'urine et l'apparition d'oedèmes.

La plupart des enfants oliguriques ou anuriques devront être dialysés par une technique de dialyse péritonéale. Une hémodialyse ou une hémodiafiltration sont indiquées si une distension intestinale ou une chirurgie abdominale récente contre-indiquent la dialyse péritonéale.

Le taux de mortalité à la phase aiguë est actuellement inférieur à 5 % (DECLUDT *et al.*, 2000). Le pronostic

vital est en cause dans les cas présentant une atteinte multiscérale incluant le système nerveux central. Après 5 à 10 ans de recul, 40 à 65 % des enfants n'ont pas de séquelles rénales évidentes (pas de protéinurie, pas d'hypertension, taux sanguin de créatinine normal).

Malgré la sensibilité à de nombreuses classes d'antibiotiques de la majorité des souches de *E. coli* O157:H7, l'utilisation d'antibiotiques est encore controversée. En ce qui concerne la durée de la maladie, aucune différence significative n'est retrouvée dans les différentes études entre les patients recevant des antibiotiques et ceux non traités. De plus, l'utilisation des antibiotiques conduit à l'aggravation de l'infection par destruction de la bactérie, induisant des concentrations en toxines libres plus élevées et de ce fait plus disponibles à l'absorption systémique (TARR, 1995).

Les pathologies animales à STEC

Les STEC sont responsables de diarrhées chez le veau mais la production de toxines Stx ne semble pas intervenir dans la pathologie due aux STEC chez les ruminants (DEAN-NYSTROM *et al.*, 1997). L'absence de récepteur pour les toxines Stx expliquerait que les ruminants ne développent pas de toxémie ou de dommage vasculaire systémique. En fait, peu d'animaux sont naturellement sensibles à une toxémie due à la production de Stx. Seuls les porcs développent une pathologie particulière : la maladie de l'œdème. Les animaux atteints ont des œdèmes, en particulier des paupières, du larynx et du front ; ils titubent, semblent aveugles et, dans les cas les plus avancés, sont couchés sur le côté et présentent des mouvements de pédalage. La mort peut survenir en moins de 24 heures après le début des signes cliniques (MARTINEAU, 1997).

Ainsi, l'ingestion de STEC (aliments contaminés ou ingestion accidentelle) peut se traduire par une diarrhée évoluant dans 90 % des cas en diarrhée sanglante, se compliquant, chez 10 % des sujets, d'un SHU. Le SHU, principale cause d'insuffisance rénale du nourrisson, est responsable de séquelles rénales graves dans un tiers des cas. Il peut entraîner la mort dans moins de 5 % des cas.

Les différentes manifestations cliniques sont liées à l'atteinte de l'endothélium vasculaire (rein, intestin, système nerveux central...).

Les personnes les plus sensibles sont les enfants de moins de 3 ans et les personnes âgées de plus de 65 ans.

Le traitement est symptomatique, l'utilisation des antibiotiques est très controversée.

Chez les animaux, seul le porc peut développer une pathologie liée aux STEC (la maladie de l'œdème du porc).

• PATHOGÉNIE

L'essentiel des signes cliniques est lié à la production des toxines Stx. Cependant, le processus infectieux est multifactoriel et dépend à la fois de facteurs bactériens et de facteurs de l'hôte (PATON et PATON, 1998). Après ingestion, les STEC doivent résister à l'acidité de l'esto-

mac. Une étape de colonisation du tube digestif est probablement nécessaire : la plupart des souches STEC (en particulier celles de sérotype O157:H7) sont capables de produire des lésions d'attachement/effacement des microvillosités intestinales ; pour les autres, les mécanismes de colonisation sont encore mal connus. Les toxines produites par les bactéries doivent ensuite traverser l'épithélium intestinal, avant de rejoindre le système circulatoire et atteindre les récepteurs spécifiques localisés à la surface des cellules endothéliales, principalement au niveau intestinal, rénal et cérébral. Les toxines Stx entraînent la mort des cellules cible par arrêt des synthèses protéiques. Un rôle des bactéries et/ou des toxines sur l'activation du système immunitaire est également suspecté.

Les Shiga toxines (Stx)

Toutes les souches STEC se caractérisent par la production de Shiga toxines (Stx). Ces toxines présentent des homologies avec la toxine de *Shigella dysenteriae* de type 1 (STROCKBINE *et al.*, 1988). Ce sont des hétéropolymères de 70 kDa constitués d'une sous-unité A (pour Activité) et de cinq sous-unités B (pour Binding ou liaison). Les deux sous-unités A et B sont codées par un opéron généralement porté par un bactériophage de type λ -like.

Dans une première étape, il y a fixation à la membrane cytoplasmique de la cellule cible: les sous-unités B, assemblées en anneau, se lient à un récepteur glycolipidique, le globotriosyl céramide Gb3 (galactose- α (1-4), galactose- β (1-4) glucosyl-céramide) (LINGWOOD *et al.*, 1987). Une fois la toxine internalisée par un mécanisme classique d'endocytose, elle subit un transport rétrograde à travers l'appareil de Golgi, puis le réticulum endoplasmique. La sous unité A est alors scindée en deux parties A1 et A2 par réduction d'un pont disulfure. La partie A1 ainsi activée est transloquée dans le cytoplasme, exerce son activité N-glycosidase sur l'ARN ribosomique 28S et bloque la sous-unité 60S du ribosome. Ceci conduit à un arrêt des synthèses protéiques et à la mort cellulaire.

L'effet cytotoxique des Stx peut classiquement être mis en évidence grâce à un modèle *in vitro* sur les cellules de type Vero ou HeLa.

On considère deux grandes classes de Shiga toxines : alors que les toxines Stx1 sont neutralisables par des anticorps anti-Shiga-toxine de *Shigella dysenteriae* 1, les toxines Stx2 ne le sont pas. Stx1 et Stx2 possèdent respectivement 99 % et 56 % d'homologies au niveau de leur séquence en acides aminés avec la toxine de type 1 de *Shigella dysenteriae* (STROCKBINE *et al.*, 1988). Elles se distinguent par leurs propriétés immunologiques mais leur mécanisme d'action et leurs propriétés biochimiques sont similaires.

Stx2 est une toxine plus puissante que Stx1. Cinq variants, au moins, sont différenciés dans la classe des toxines Stx2 : Stx2, Stx2c, Stx2d, Stx2e et Stx2f. Ces sous-types présentent des différences d'activité biologique, de

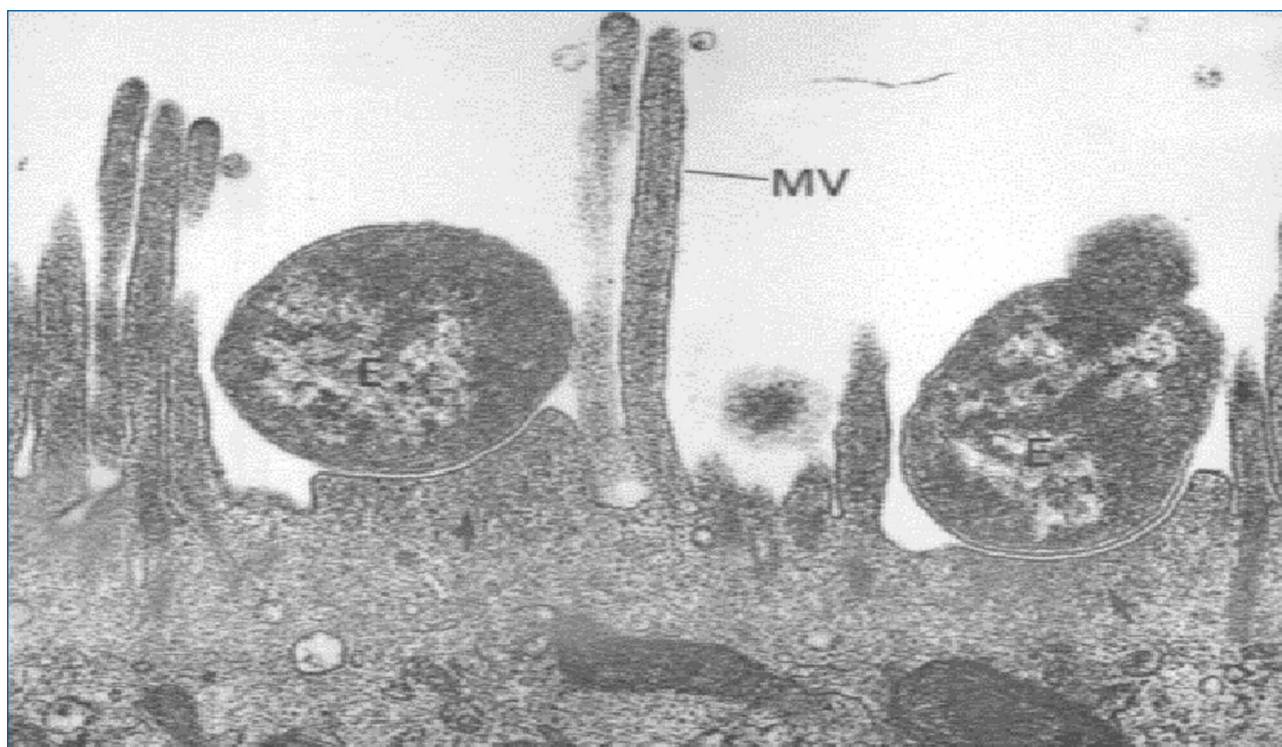


Figure 2 : Lésions d'attachement-effacement (A/E). Observation par microscopie électronique des lésions A/E de la souche EPEC de référence E2348/69 sur des entérocytes humains (KNUTTON *et al.*, 1987). Ces lésions sont caractérisées par un effacement des microvillosités (MV) et par une accumulation d'actine cellulaire sous-jacente à la bactérie et formant un piédestal.

réactivité sérologique, ou de spécificité de liaison aux récepteurs. D'autres variants ont été mis en évidence sur la base de différences au niveau de la séquence nucléotidique des gènes. Certains variants semblent associés à des hôtes spécifiques : Stx2e est retrouvé presque exclusivement dans les souches d'origine porcine, le variant Stx2d semblant associé aux souches d'origine ovine (RAMACHANDRAN *et al.*, 2001). Le variant Stx2e, associé à « l'œdème du porc », et rarement trouvé dans les souches d'origine humaine, se lie à un récepteur différent du Gb3, le globotétrasyll céramide Gb4. D'autre part, le type de variant Stx pourrait influencer directement la virulence des souches (FRIEDRICH *et al.*, 2002).

Après avoir traversé l'épithélium intestinal, les toxines seraient capables de diffuser par voie systémique et d'être véhiculées jusqu'aux organes cibles par la circulation sanguine, soit via les globules rouges, soit par l'intermédiaire des polynucléaires. Elles seraient responsables des thromboses observées au cours des atteintes locales et systémiques, par altération des cellules endothéliales. En effet, les cellules endothéliales vasculaires humaines, au niveau du côlon, du parenchyme rénal et du système nerveux central, sont particulièrement riches en récepteurs Gb3, expliquant les manifestations cliniques observées (diarrhée, insuffisance rénale, troubles neurologiques) (PATON et PATON, 1998).

Les facteurs d'adhésion : lésions d'attachement-effacement

La colonisation du tube digestif par certaines souches STEC s'accompagne du développement de lésions spécifiques des entérocytes dites d'attachement-effacement (A/E), qui se limitent au côlon et au caecum. Les lésions A/E, d'abord décrites chez un autre pathovar d' *E. coli* responsable de diarrhées, les EPEC, se caractérisent par un effacement des microvillosités des cellules de l'épithélium intestinal dans la zone de contact entre la bactérie et la cellule cible. Un piédestal, constitué d'actine cellulaire, sur lequel les bactéries peuvent s'enchâsser de façon très étroite, est alors constitué (figure 2). Les lésions provoquées par le mécanisme de résorption des microvillosités intestinales, en diminuant la surface d'absorption, pourraient entraîner les symptômes diarrhéiques observés lors des infections.

Les gènes responsables des lésions A/E sont portés par le locus chromosomique LEE, codant un système de sécrétion particulier, le système de type III, et trois classes de protéines sécrétées par l'intermédiaire de celui-ci. Parmi les gènes impliqués notons le gène *eae* (*E. coli* attaching and effacing) qui code une protéine de membrane externe, appelée intimine (JERSE, GISCQUELAIS et KAPER, 1991) et le gène *tir* codant le co-récepteur spécifique de l'intimine (Tir, Translocated Intimin Receptor).

L'entérohémolysine

Un nouveau phénotype hémolytique dû à l'entérohémolysine E-hlyA a été mis en évidence chez les STEC en 1988 (BEUTIN *et al.*, 1988). La protéine E-hlyA est codée par le gène *ehxA* porté par un plasmide. Son mécanisme d'action est comparable à celui de l' α -hémolysine. Cependant, l'activité de E-hlyA est moins puissante que celle de l' α -hémolysine : le phénotype hémolytique des STEC se caractérise par une lyse des érythrocytes de mouton sur gélose au sang plus discrète et plus lente (SCHMIDT, BEUTIN et KARCH, 1995).

Tous les facteurs impliqués dans la pathogénicité de ces souches chez l'homme ne sont pas encore identifiés. Notons, par ailleurs, que la majorité des facteurs de virulence a été acquise par des mécanismes d'échanges génétiques par transfert horizontal, avec un rôle important des bactériophages.

Ainsi, les souches STEC se caractérisent par la production de Shiga-toxines : Stx1 et/ou Stx2 ; Stx2 étant une toxine plus puissante que Stx1. Il existe de nombreux variants du gène codant Stx2.

Ces toxines se fixent sur le récepteur Gb3, présent principalement dans les cellules endothéliales vasculaires, puis détruisent ces cellules expliquant ainsi les manifestations cliniques (complications rénales ou neurologiques).

La plupart des souches pathogènes pour l'homme ont la possibilité de provoquer des lésions d'attachement et d'effacement des microvillosités intestinales, dues à l'expression du gène *eae*, entraînant des symptômes diarrhéiques. Cette particularité est partagée par les souches EPEC.

• ÉPIDÉMIOLOGIE

Épidémiologie humaine et animale des STEC

En France, la recherche de STEC dans les selles n'étant pas effectuée en routine dans les laboratoires d'analyses médicales, la surveillance des infections à STEC est basée sur la surveillance des syndromes hémolytiques et urémiques (SHU), chez les enfants de moins de 15 ans.

Cette surveillance a été mise en place, en 1996, par le Réseau National de Santé Publique (devenu Institut de Veille Sanitaire ou InVS), à la suite d'une étude rétrospective concernant les années 1995 à 1996, qui a montré que 86 % des SHU pédiatriques en France survenaient suite à une infection à STEC. Elle repose sur un réseau de néphrologues pédiatres de 30 services de pédiatrie de centres hospitaliers universitaires et généraux, répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain, qui participent volontairement (DECLUDT *et al.*, 2000).

Les objectifs de cette surveillance sont de suivre les tendances spatio-temporelles du SHU chez les enfants âgés de moins de 15 ans, de connaître les caractéristiques

épidémiologiques des cas et de détecter des phénomènes épidémiques.

En 2002, un Centre National de Référence (CNR) des *Escherichia coli* et *Shigella* (Unité Biodiversité des Bactéries pathogènes émergentes, Institut Pasteur, Paris) et un laboratoire associé (Laboratoire de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris) ont été créés, conformément à l'arrêté ministériel du 29 juin 2001, pour contribuer à la surveillance des infections à STEC en France.

La détection de cas groupés de SHU liés à une infection à STEC donne lieu à la mise en œuvre d'une enquête épidémiologique, alimentaire et environnementale, pour identifier l'origine et la source de contamination et proposer des mesures de contrôle et de prévention.

Le sérotype de STEC le plus fréquemment mis en cause lors d'infections sporadiques ou d'épidémies est *E. coli* O157:H7. D'autres sérogroupes non-O157 (O26, O103, O111, O121, O145, O153, etc) sont aussi impliqués dans la survenue d'infections à STEC et de SHU, mais leur fréquence réelle est difficile à estimer du fait, le plus souvent, de méthodes de détection inadaptées ou d'absence de recherche (GRIFFIN *et al.*, 2000). En effet, la recherche de STEC est souvent limitée à *E. coli* O157, (plus facilement détectable en raison de l'absence d'un caractère de fermentation sorbitol, aisément recherché sur un milieu sélectif d'isolement), le seul séro groupe actuellement réglementé par la législation européenne.

Par ailleurs, certains patients atteints de SHU peuvent être co-infectés par un STEC non-O157 et *E. coli* O157:H7 (TARR, 1995).

De 1995 à 2001, cinquante cinq pour cent des cas de SHU, pour lesquels une sérologie a été réalisée, étaient associés à une sérologie positive à STEC, avec une forte proportion du séro groupe O157 (86 %), ce qui est du même ordre de grandeur que dans les autres pays européens.

En 2001, en France, le taux d'incidence du SHU autochtone était de 0,67 pour 100 000 enfants de moins de 15 ans (soit 76 cas notifiés) et de 2,1 pour 100 000 enfants de moins de 2 ans. Ce taux d'incidence est resté stable depuis 1996 (< 1 pour 100 000). Les taux d'incidence les plus élevés ont été observés dans les régions françaises suivantes : Champagne-Ardenne (2,2/10⁵), Bretagne (1,5/10⁵), Midi-Pyrénées (1,4/10⁵), et Alsace (1,2/10⁵) (HAEGHEBAERT *et al.*, 2003).

Aux États-Unis, la fréquence estimée des infections liées aux STEC non-O157 est quasi identique à celles dues au séro groupe O157 (PHAN *et al.*, 2002). Au Brésil, ce sont les sérogroupes non-O157 qui sont majoritairement isolés chez les patients présentant une diarrhée (IRINO *et al.*, 2000). En Australie, le sérotype O157:H7 est rare ; ce sont les STEC non-O157, et principalement le séro groupe O111:H-, qui sont à l'origine d'infections sévères et d'épidémies (ELLIOTT *et al.* 2001).

Les principaux modes de transmission des infections à STEC à l'homme sont la consommation d'aliments contaminés, la transmission de personne à personne, l'ingestion d'eau contaminée et le contact avec des animaux (notamment les bovins). Aux États-Unis, ces différents modes de transmission représentent respectivement 66 %, 20 %, 12 % et 2 % des cas (GRIFFIN *et al.*, 2000).

Le principal mode de transmission est la consommation d'aliments contaminés :

- produits carnés, principalement de la viande de bœuf mais aussi des produits transformés à base de porc ou de la viande de cerf ;
- lait et produits laitiers non pasteurisés ;
- légumes crus (salade, radis, etc) ;
- cidre et jus de pommes non pasteurisés.

La consommation d'aliments contaminés de manière croisée à partir de viande de bœuf hachée crue a aussi été décrite, notamment lorsque le personnel de cuisine ne se lavait pas les mains après avoir touché la viande.

La consommation d'eau de puits, d'eau de source privée et d'eau de distribution non traitées a été à l'origine de cas isolés et d'épidémies à *E. coli* O157. L'ingestion accidentelle d'eau, lors de baignade dans un lac ou autre étendue d'eau ou dans une piscine, a elle aussi été incriminée.

Une transmission de personne à personne, par contact rapproché avec une ou des personnes ayant eu de la diarrhée, a été observée en milieu familial ou dans des collectivités : crèches, maisons de retraite ou institutions médico-sociales.

La transmission d'infections à *E. coli* O157 à l'homme, par contact direct ou indirect avec des animaux de ferme ou leurs déjections, a été décrite lors d'investigations de cas isolés (HEUVELINK *et al.*, 2002), d'études de cas sporadiques et lors d'épidémies.

Des cas de contamination de laboratoire ont été décrits dans la littérature.

Aux États-Unis, en 1982, deux épidémies de colites hémorragiques ont été rapportées dans 2 états distincts (Oregon et Michigan), à 3 mois d'intervalle. Les investigations épidémiologiques et microbiologiques mises en œuvre ont permis de recenser au moins 47 malades (26 dans l'Oregon et 21 dans le Michigan) et d'isoler une bactérie de sérotype rare, *E. coli* O157:H7. Parmi les malades, 35 (73 %) ont été hospitalisés, aucune complication, séquelle ou décès n'ayant été rapporté. L'enquête cas-témoins réalisée a montré que la survenue de la maladie était très fortement associée au fait d'avoir mangé dans un des restaurants appartenant à une chaîne de restauration rapide et d'avoir consommé au moins un des sandwiches contenant de la viande hachée de bœuf, des oignons et des cornichons. Des souches de *E. coli* O157:H7 ont été isolées chez des malades (9 cas/20) et sur un prélèvement de steak haché cru provenant d'un lot suspecté d'avoir été utilisé pour la préparation de hamburgers dans les restaurants incriminés. Le faible

taux d'attaque observé lors de ces 2 épidémies suggérait un faible taux de contamination de la viande crue, une diminution de la contamination par la cuisson de la viande ou des facteurs de sensibilité d'hôte encore inconnus. En 1982, ont donc été décrites, pour la première fois, des épidémies de colite hémorragique due à *E. coli* O157:H7 (WELLS *et al.*, 1983) et associées à la consommation de sandwiches à base de viande hachée de bœuf (RILEY *et al.*, 1983).

Au Japon, entre mai et décembre 1996, une épidémie d'infections à *E. coli* O157:H7 a été rapportée (16 foyers de cas groupés), impliquant plus de 7000 personnes. Au total, 9451 cas ont été identifiés, dont au moins 129 confirmés. Douze décès ont été observés. Ces épidémies ont affecté plusieurs écoles élémentaires et crèches (9 épisodes ; 7 470 cas), des maisons de retraite (3 épisodes ; 123 cas), une société industrielle (1 épisode ; 47 cas) et un établissement de préparation de repas pré-emballés (1 épisode ; 191 cas). Les repas servis dans les écoles étaient les mêmes pour toutes les écoles et étaient préparés dans une seule et même cuisine centrale. L'étude de cohorte réalisée sur 47 000 enfants et l'enquête de traçabilité sur l'origine des denrées alimentaires consommées ont montré que l'infection était liée à la consommation de germes de radis blancs contaminés, peu cuits. Ces germes de radis blancs provenaient d'un seul producteur, mais aucune souche de *E. coli* O157:H7 n'a été mise en évidence parmi tous les prélèvements environnementaux réalisés chez celui-ci (eaux d'arrosage, engrais, graines et germes de radis). L'origine de la contamination des germes de radis n'a donc pas été déterminée. Cette épidémie d'infections à STEC est la première épidémie soumise à investigation au Japon, liée à la consommation de germes de végétaux (MICHINO *et al.*, 1999).

Au Canada, en mai 2000, une épidémie d'infections à *E. coli* O157:H7 a été décrite dans la ville de Walkerton (Ontario), située en zone d'élevage intensif de bovins. Plus de 2000 cas ont été identifiés parmi les 4600 habitants. Soixante-cinq patients ont été hospitalisés, 27 ont développé un SHU et 7 sont décédés. Les investigations épidémiologiques suggéraient que l'eau du réseau de distribution (réseau d'aqueduc municipal) était à l'origine de la survenue de l'infection. Les analyses microbiologiques des prélèvements d'eau de l'aqueduc et des 3 puits approvisionnant la ville ont montré une forte contamination bactérienne et la présence de *E. coli* O157:H7 dans l'aqueduc et l'un des puits. La contamination du puits était liée à l'épandage de fumier de bovins sur les terres d'une ferme située à proximité du puits incriminé. Les prélèvements réalisés dans cette ferme ont montré l'existence de souches de *E. coli* O157:H7 qui présentaient les mêmes caractéristiques en électrophorèse en champ pulsé que les souches d'origine humaine. L'ampleur de l'épidémie s'expliquait par un ensemble de circonstances inhabituelles incluant des pluies torrentielles qui ont entraîné des inondations et une contamination des sols et des eaux de surface par *E. coli* O157. Cette épidémie est la première épidémie à *E. coli* O157 de grande ampleur liée à la consommation d'eau de boisson contaminée, documentée au Canada. Elle remet en question la sûreté des sources

d'eau souterraine qui peuvent être contaminées par les eaux de surface, particulièrement en période d'inondation (O'CONNOR, 2002).

Ainsi, en France, la surveillance des infections à STEC est basée sur la surveillance des syndromes hémolytiques et urémiques (SHU) chez les enfants de moins de 15 ans. Elle repose sur un réseau hospitalier de néphrologues pédiatres volontaires et est coordonnée par l'Institut de Veille Sanitaire.

L'incidence annuelle du SHU pédiatrique en France est inférieure à 1 cas pour 100 000 enfants de moins de 15 ans ; elle est du même ordre de grandeur que celles observées dans d'autres pays européens.

Depuis 1996, aucune épidémie de grande ampleur n'a été rapportée en France, contrairement à ce qui a pu être décrit au Royaume-Uni, aux États-Unis et au Japon.

Dans le monde, les principaux aliments mis en cause lors d'épidémies d'infections à STEC sont : viande hachée de bœuf insuffisamment cuite, produits laitiers non pasteurisés, produits végétaux crus ou non pasteurisés (salade, radis blancs, jus de pommes), eau de distribution.

La transmission de personne à personne et par contact avec des animaux de ferme ou leur environnement ont également été incriminés dans la survenue d'infections à STEC ou de SHU.

Épidémiologie environnementale et alimentaire des STEC

Les données disponibles varient selon les auteurs et selon que l'on s'intéresse aux STEC dans leur ensemble ou à des sérotypes particuliers comme O157:H7.

En ce qui concerne les STEC, leur présence chez les ruminants est reconnue dans le monde entier et ne semble pas associée à des manifestations cliniques.

Pour les bovins, cette présence est avérée, par exemple sur les continents américains, aussi bien chez les animaux des filières viande que dans les cheptels laitiers (CERQUEIRA *et al.* 1999). Ainsi, des souches des sérogroupes O157, O6, O39 et O113 ont pu être bactériologiquement identifiées à partir de prélèvements fécaux de bovins à l'herbe aux États-Unis, avec des taux de prévalence variant de 4 % en été, à 15 % en hiver. Au Brésil, la présence de gènes *stx* a été estimée dans une étude à 71 % des bovins testés (82 % chez les vaches laitières et 53 % en filière viande) avec isolement de *E. coli* O157:H7 pour 1,5 % des animaux.

En Australie, après analyse en PCR, 16,7 % des fèces de vaches laitières ont été trouvés porteurs de gènes *stx* (COBOLD et DESMARCHELIER, 2001), avec mise en évidence des sérotypes O26:H11 et O157:H7 (1,7 % et 1,9 % des prélèvements, respectivement), représentant 7,8 % et 9,4 % de l'ensemble des STEC mis en évidence.

En France, une étude menée sur un an a montré la présence des gènes *stx* dans 330 (70 %) de 471 prélèvements fécaux, 47 (11 %) parmi 411 prélèvements de muscle et 60 (10 %) parmi 603 prélèvements de fromages (PRADEL *et al.*, 2000). Trente quatre pour cent des prélèvements fécaux ont en outre permis l'isolement de souches de STEC, ainsi que 1 et 4 % des prélèvements de fromages et de muscle, respectivement. Sur les 210 souches STEC isolées, 9 (5 %) possédaient le gène *eae*. Les sérogroupes les plus fréquents étaient O174 (anciennement OX3), O113, O22, O91, O172 et O6. Une seule souche, isolée d'un bovin, appartenait au sérotype O157:H7.

Des études portent spécifiquement sur le sérotype O157:H7. Citons les rares résultats disponibles en France, pour lesquels les gènes *stx* sont présents dans 18 % des matières fécales et 10,7 % des carcasses de bovins étudiées, avec isolement de souches STEC dans 7,9 % des fèces et 1,9 % des carcasses (ROGERIE *et al.*, 2001). Aux États-Unis, 0,28 % de 3570 prélèvements fécaux de vaches laitières étaient porteurs de ce sérotype, représentant 8,3 % des troupeaux laitiers étudiés, contre 0,71 % de fèces provenant de bovins à l'engraissement pour 16 % des troupeaux correspondants (HANCOCK *et al.*, 1994).

Concernant *E. coli* O157:H7, la synthèse de MEYER-BROSETA *et al.* (2001) montre qu'aux États-Unis, la prévalence est de moins de 1,5 % chez des bovins de moins de 8 semaines, âge du sevrage. Entre 8 semaines et 4 mois, elle augmente de 1,8 à 5 %. Ensuite, la prévalence décroît avec l'âge, comme cela a été montré, par exemple, par une étude sur des génisses âgées de 4 à 24 mois, grâce à des prélèvements mensuels montrant une prévalence moyenne de 2,3 %. Les bovins adultes laitiers ou à viande excrètent *E. coli* O157:H7 avec une plus faible fréquence, inférieure à 0,7 %. Le taux de *E. coli* O157:H7 excrété varie entre 10³ et 10⁵ ufc/g (Unités formant une colonie par gramme) de fèces de veaux.

En Europe, la synthèse de MEYER-BROSETA *et al.* (2001) relève des observations comparables, avec une plus grande prévalence de *E. coli* O157:H7 chez les jeunes.

Le portage fécal en STEC des moutons et des chèvres, a fait l'objet de nombreux travaux. ZSCHOCK *et al.* (2000) ont montré que, respectivement, 32,1 % des moutons et 75,3 % des chèvres étaient porteurs sains. BEUTIN *et al.* (1993) et RANDALL, WRAY et McLAREN (1997) confirment ces chiffres élevés : respectivement 66,6 % des moutons et 56,1 % des chèvres, puis 63 % des moutons et 45 % des chèvres sont montrés excréteurs de STEC. FEGAN et DESMARCHELIER (1999) montrent, quant à eux, que 45 % des moutons sont excréteurs de STEC : des fèces d'ovins provenant de 14 exploitations se sont avérées positifs pour la recherche de STEC à 45 %, contre 36 % des fèces d'agneaux prélevées en abattoir ; 64 % des isolats contenaient les gènes *stx*₁ et *stx*₂.

	Pays	Aliment	Détection	Références
STEC	Thaïlande	Bœuf cru	8/93 (8,6 %)	(SUTHIENKUL <i>et al.</i> , 1990)
		Poulet cru	1/107 (0,9 %)	
		Porc cru	1/111 (0,9 %)	
		Légumes crus	0/130 (0 %)	
	Canada	Bœuf cru	82/225 (36 %)	(READ <i>et al.</i> , 1990)
		Porc cru	25/235 (11 %)	
		Poulet cru	0/200 (0)	
	Royaume Uni	Bœuf haché cru	17/134 (13 %)	(WILLSHAW <i>et al.</i> , 1993)
		Saucisse de bœuf crue	9/52 (17 %)	
		Beef burger cru	27/124 (22 %)	
	États-Unis	Bœuf cru	14/60 (23 %)	(SAMADPOUR <i>et al.</i> , 1994)
		Porc cru	9/51 (18 %)	
		Agneau cru	10/21 (48 %)	
		Veau cru	5/8 (63 %)	
		Poulet cru	4/33 (12 %)	
		Dinde crue	1/15 (7 %)	
	France	Porc cru	47/411 (11 %)	(BOUVET <i>et al.</i> , 2001)
		Bœuf cru	340/2800 (12 %)	(PRADEL <i>et al.</i> , 2000)

Tableau 1 : Présence des STEC dans les viandes.

Les bovins et les ovins sont les principaux réservoirs mais d'autres animaux d'élevage ou sauvages peuvent également être porteurs de *E. coli* O157 et ainsi participer à la contamination de l'environnement.

Les porcs, les chiens et les chats (avec, pour ces animaux, des questions concernant l'éventualité d'une pathologie associée (BEUTIN, 1999) sont cités comme étant susceptibles d'héberger des STEC, ainsi que les chevaux .

La contamination fécale est la principale source de contamination de l'environnement et l'apport régulier de STEC à travers les fèces des animaux est en partie responsable de la persistance de ces pathogènes dans l'environnement. Ceux-ci peuvent ensuite, à travers les sols, les cultures, les eaux et les sédiments, présenter un risque potentiel de contamination de l'homme ou de l'animal.

Ce risque nécessite de prendre en compte le comportement des STEC dans l'environnement. En effet, les doses infectieuses pour l'homme, étant faibles toute survie ou croissance dans le milieu environnemental peut avoir des conséquences importantes en terme de santé humaine.

KUDVA, BLANCH et HOVDE (1998) ont montré que les *E. coli* O157:H7 peuvent survivre pendant plus d'un an (jusqu'à 21 mois pour un échantillon) dans du fumier obtenu à partir de fèces d'ovins infectées expérimentalement et conservées dans des conditions environnementales réelles et

en anaérobiose. Dans des conditions expérimentales similaires mais en aérobie, *E. coli* O157 a survécu 4 mois (fèces d'ovins) et 47 jours (fèces de bovins). Les capacités de résistance des *E. coli* O157:H7 dans l'environnement font qu'un délai de 3 semaines entre la présence d'animaux d'élevage sur un terrain et son usage pour diverses activités de loisir semble insuffisant pour éviter le risque de contamination des humains par des souches de *E. coli* O157:H7 (BROWN *et al.*, 2002).

Au Royaume Uni, l'importance de la contamination des rivières et des lacs est liée à deux facteurs principaux : la fertilisation des pâtures ou des sols et la résistance du séro-groupe O157 au stress environnemental (CHART, 1998).

La contamination des denrées alimentaires par les STEC est toujours plus importante que la contamination par le seul sérotype O157:H7 (dans les études réalisées, moins de 5 % des viandes hachées de bœuf sont contaminées par *E. coli* O157:H7, alors que jusqu'à 30 % des prélèvements étudiés peuvent être positifs pour la recherche des gènes stx).

D'une manière générale, comme le suggèrent les tableaux 1 et 2, la contamination des denrées alimentaires par les STEC est toujours plus importante que leur contamination par le seul sérotype O157:H7 (SAMADPOUR *et al.*, 1994).

	Pays	Aliment	Détection	Références
<i>E. coli</i> O157:H7	États-Unis	Bœuf cru Porc cru Volaille crue Agneau cru	6/164 (3,7 %) 3/264 (1,5 %) 4/263 (1,5 %) 4/205 (2 %)	(DOYLE et SCHOENI, 1987)
	Canada	Bœuf cru	4/165 (2,4 %)	(SEKLA <i>et al.</i> , 1990)
	États-Unis	Bœuf cru Lait cru	3/107 (2,8 %) 11/115 (10 %)	(PADHYE et DOYLE, 1991)
	États-Unis	Bœuf cru Foie de veau cru Poulet cru	2/1668 (0,1 %) 9/4953 (0,2 %) 0/3977 (0 %)	(GRIFFIN et TAUXE, 1991)
	États-Unis	Bœuf cru	0/1400 (0 %)	(TARR <i>et al.</i> , 1999)
	Hollande	Bœuf cru Steak haché (bœuf et porc)	2/1469 (0,4 %) 1/147 (0,7 %)	(HEUVELINK <i>et al.</i> , 1999)
	France	Bœuf cru haché	4/3500 (0,1 %)	(VERNOZY-ROZAND <i>et al.</i> , 2002)
	Australie	Mouton désossé	(1,3 %)	(PHILLIPS <i>et al.</i> , 2001)
	Royaume Uni	Steak haché	(0,44 %)	(CHAPMAN <i>et al.</i> , 1992)

Tableau 2 : Présence de *E. coli* O157:H7 dans les viandes

Ainsi, parmi les animaux, les bovins et les ovins sont les réservoirs principaux mais d'autres animaux d'élevage ou sauvages peuvent également être porteurs de STEC et participer à la contamination de l'environnement.

Les études réalisées chez les bovins montrent que 20 à 80 % d'entre eux peuvent être porteurs de STEC (recherche des gènes *stx* dans les matières fécales) ; *E. coli* O157:H7 n'est cependant isolé que chez peu d'animaux (de 0 à 3 %) dans ces études.

La persistance de souches de STEC dans les cheptels est due, d'une part, au portage intestinal par les animaux et, d'autre part, à la contamination des sols et des eaux à partir des déjections animales pouvant être à l'origine d'une contamination des aliments et de l'eau d'abreuvement des animaux.

Les STEC semblent pouvoir survivre et rester infectieux pendant plusieurs semaines dans l'environnement de la ferme (sédiments d'abreuvoir, fèces ou fumier sur le sol,...).

Des contaminations d'eau de surface, d'eau profonde et d'eau de réseau de distribution par *E. coli* O157:H7 ont été décrites lors d'épidémies. *E. coli* O157:H7 peut survivre dans l'eau pendant plusieurs jours à des températures inférieures à 8°C.

BIBLIOGRAPHIE

- BEUTIN L, PRADA J, ZIMMERMANN S, STEPHAN R, ORSKOV I, ORSKOV F (1988) Enterohemolysin, a new type of hemolysin produced by some strains of enteropathogenic *E. coli* (EPEC). *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg [A]*, **267**(4), 576-588.
- BEUTIN L, GEIER D, STEINRUCK H, ZIMMERMANN S, SCHEUTZ F (1993) Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals. *J. Clin. Microbiol.*, **31**, 2483-2488.
- BEUTIN L (1999) *Escherichia coli* as a pathogen in dogs and cats. *Vet. Res.*, **30**, 285-298.
- BOUVET J, BAVAI C, ROSSEL R, LE ROUX A, MONTET MP, RAY-GUENIOT S, MAZUY C, ARQUILLIERE C, VERNZOZY-ROZAND C (2001) Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* and *E. coli* O157:H7 in pig carcasses from three French slaughterhouses. *Int. J. Food Microbiol.*, **71**, 249-255.
- BROWN MR, SMITH AW, BARKER J, HUMPHREY TJ, DIXON B (2002) *E. coli* O157 persistence in the environment. *Microbiology*, **148**, 1-2.
- CERQUEIRA AM, GUTH BE, JOAQUIM RM, ANDRADE JR (1999) High occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle in Rio de Janeiro State, Brazil. *Vet. Microbiol.*, **70**, 111-121.
- CHAPMAN PA, SIDDONS CA, WRIGHT DJ, NORMAN P, FOX J, CRICK E (1992) Cattle as a source of verotoxigenic *Escherichia coli* O157. *Vet. Rec.*, **131**, 323-324.
- CHAPMAN PA, CORNELL J, GREEN C (2000) Infection with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 during a visit to an inner city open farm. *Epidemiol. Infect.*, **125**, 531-536.
- CHAPMAN PA, SIDDONS CA, CERDAN MALO AT, HARKIN MA (2000) A one year study of *Escherichia coli* O157 in raw beef and lamb products. *Epidemiol. Infect.*, **124**, 207-213.
- CHART H (1998) Are all infections with *Escherichia coli* O157 associated with cattle? *Lancet*, **352**, 1005.
- COBBOLD R, DESMARCHELIER P (2000) A longitudinal study of Shiga-toxigenic *Escherichia coli* (STEC) prevalence in three Australian dairy herds. *Vet. Microbiol.*, **71**, 125-137.
- DEAN-NYSTROM EA, BOSWORTH BT, CRAY WC Jr., MOON HW (1997) Pathogenicity of *Escherichia coli* O157:H7 in the intestines of neonatal calves. *Infect. Immun.*, **65**, 1842-1848.
- DECLUDT B, BOUVET P, MARIANI-KURKDJIAN P, GRIMONT F, GRIMONT PA, HUBERT B, LOIRAT C et Société de Néphrologie Pédiatrique (2000) Haemolytic uraemic syndrome and Shiga toxin-producing *E. coli* infection in children in France. *Epidemiol. Infect.*, **124**, 215-220.
- DOYLE MP, SCHOENI JL (1987) Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 2394-2396.
- ELLIOTT EJ, ROBINS-BROWNE RM, O'LOUGHLIN EV, BENNETT-WOOD V, BOURKE J, HENNING P, HOGG GG, KNIGHT J, POWELL H, REDMOND D (2001) Nationwide study of haemolytic uraemic syndrome : clinical, microbiological, and epidemiological features. *Arch. Dis. Child*, **85**, 125-131.
- FEGAN N, DESMARCHELIER P (1999) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in sheep and pre-slaughter lambs in eastern Australia. *Lett. Appl. Microbiol.*, **28**(5), 335-339.
- FRIEDRICH AW, BIELASZEWSKA M, ZHANG WL, PULZ M, KUCZIUS T, AMMON A, KARCH H (2002) *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J. Infect. Dis.*, **185**, 74-84.
- GRIFFIN PM, TAUXE RV (1991) The epidemiology of infections caused by *E. coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Rev.*, **13**, 60-98.
- GRIFFIN P, MEAD P, Van GILDER T, HUNTER, S, STROCKBINE N, TAUXE R (2000) Shiga Toxin-producing *E. coli* infections in the United States: current status and challenges. In: *4th International Symposium and Workshop on "Shiga toxin (verocytotoxin)-producing E. coli infections"* (october 29-November 2, 2000) Kyoto, Japan.
- HAEGHEBAERT S, SULEM P, DEROUILLÉ L, VANNEROY-ADENOT E, BAGNIS O, BOUVET P, GRIMONT F, BRISABOIS A, LE QUERREC F, HERVY C, ESPIE E, De VALK h, VAILLANT H (2003) Two outbreaks of Salmonella enteritidis phage type 8 linked to the consumption of Cantal cheese made with raw milk, France, 2001. *Euro. Surveill.*, **8**(7), 151-156.
- HANCOCK DD, BESSER TE, KINSEL ML, TARR PI, RICE DH, PAROS MG (1994) The prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy and beef cattle in Washington State. *Epidemiol. Infect.*, **113**, 199-207.
- HEUVELINK AE, ZWARTKRUIS-NAHUIS JT, BEUMER RR, De BOER E (1999) Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in meats obtained from retail outlets in The Netherlands. *J. Food Prot.*, **62**, 1115-1122.
- HEUVELINK AE (2000) *Verocytotoxin-producing E. coli in humans and the food chain*. Thèse Doctorat ès Sciences, Université catholique de Nijmegen.
- HEUVELINK AE, Van HEERWAARDEN C, ZWARTKRUIS-NAHUIS JT, Van OOSTEROM R, EDINK K, Van DUYNHOVEN YT, De BOER E (2002) *Escherichia coli* O157 infection associated with a petting zoo. *Epidemiol. Infect.*, **129**(2), 295-302.
- IRINO K, GOMES TAT, VAZ TMI, KANO E, KATO MAMF, DIAS AMG, GONCALVES CR, GUTH BEC (2000) Prevalence of Shiga toxin and intimin gene sequences among *Escherichia coli* of serogroups O26, O55, O111, O119 and O157 isolated in Sao Paulo, Brazil. In: *4th International Symposium on "Shiga toxin (verocytotoxin)-producing E. coli infections"*. Oct-nov 2000, Kyoto, Japon.
- JERSE AE, GISCQUELAIS KG, KAPER JB (1991) Plasmid and chromosomal elements involved in the pathogenesis of attaching and effacing *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **59**, 3869-3875.
- KARMAI MA, STEELE BT, PETRIC M, LIM C (1983) Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet*, **1**, 619-620.
- KNUTTON S, LLOYD DR, McNEISH AS (1987) Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to human intestinal enterocytes and cultured human intestinal mucosa. *Infect. Immun.*, **55**, 69-77.
- KONOWALCHUK J, SPEIRS JI, STAVRIC S (1977) Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, **18**, 775-779.
- KUDVA IT, BLANCH K, HOVDE CJ (1998) Analysis of *Escherichia coli* O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 3166-3174.

- LINGWOOD CA, LAW H, RICHARDSON S, PETRIC M., BRUNTON JL, De GRANDIS S, KARMALI M. (1987) Glycolipid binding of purified and recombinant *Escherichia coli* produced verotoxin *in vitro*. *J. Biol. Chem.*, **262**, 8834-8839.
- LOIRAT C, BAUDOUIN V, SON-SINO E, MARIANI-KURKDJIAN P, ELION J (1992) Syndrome Hémolytique et Urémique de l'enfant : aspects cliniques, étiologiques, éléments du pronostic et résultats thérapeutiques. In : *Actualités Néphrologiques de l'Hopital Necker*. Flammarion-Médecine-Sciences (éd). Paris, pp. 133-158.
- MARTINEAU GP (1997) *Maladies d'élevage des porcs*. France-Agricole (éd)., 479 p.
- MEYER-BROSETA S, BASTIAN SN, ARNE PD, CERF O, SANAA, M (2001) Review of epidemiological surveys on the prevalence of contamination of healthy cattle with *Escherichia coli* serogroup O157:H7. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, **203**, 347-361.
- MICHINO H, ARAKI K, MINAMI S, TAKAYA S, SAKAI N, MIYAZAKI M, ONO A, YANAGAWA H (1999) Massive outbreak of *E. coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am. J. Epidemiol.*, **150**, 787-796.
- O'CONNOR D (2002) Rapport de la commission d'enquête sur Walkerton : Les événements de mai 2000 et les questions connexes. Ministère du procureur général de l'Ontario, Toronto, Canada, pp. 36.
- PADHYE NV, DOYLE MP (1991) Rapid procedure for detecting enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2693-2698.
- PATON JC, PATON AW (1998) Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, **11**, 450-479.
- PHAN Q, MCCARTHY T, MSCHAR P, WELLES C, HOWARD R, RABATSKY-EHR T, HADLER JL (2002) Epidemiology of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) infections in Connecticut (February, 1/2000 - January, 31/2001). In: *3rd International Conference on Emerging Infectious Diseases*, March 2002, Atlanta, Georgia, USA.
- PHILLIPS, D, SUMMER J, ALEXANDER JF, DUTTON KM (2001) Microbiological quality of Australian sheep meat. *J. Food Prot.*, **64**, 697-700.
- PRADEL N, LIVRELLI V, De CHAMPS C, PALCOUX JB, REYNAUD A, SCHEUTZ F, SIROT J, JOLY B, FORESTIER C (2000) Prevalence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle, food, and children during a one-year prospective study in France. *J. Clin. Microbiol.*, **38**, 1023-1031.
- RAMACHANDRAN V, HORNITZKY MA, BETTELHEIM KA, WALKER, MJ, DJORDJEVIC SP (2001) The common ovine Shiga toxin 2-containing *Escherichia coli* serotypes and human isolates of the same serotypes possess a Stx2d toxin type. *J. Clin. Microbiol.*, **39**, 1932-1937.
- RANDALL LP, WRAY C, McLAREN IM (1997) Studies on the development and use of a monoclonal sandwich ELISA for the detection of verotoxic *Escherichia coli* in animal faeces. *Vet. Rec.*, **140**, 112-115.
- READ SC, GYLES CL, CLARKE RC, LIOR H, McEWEN S (1990) Prevalence of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in ground beef, pork, and chicken in southwestern Ontario. *Epidemiol. Infect.*, **105**, 11-20.
- RILEY LW, REMIS RS, HELGERSON SD, McGEE HB, WELLS JG, DAVIS BR, HEBERT RJ, OLCOTT ES, JOHNSON LM, HARGRETT NT, BLAKE PA, COHEN ML (1983) Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N. Engl. J. Med.*, **308**, 681-685.
- ROGERIE F, MARECAT A, GAMBADE S, DUPONDE, BEAUBOIS P, LANGE M (2001) Characterization of Shiga toxin producing *E. coli* and O157 serotype *E. coli* isolated in France from healthy domestic cattle. *Int. J. Food Microbiol.*, **63**, 217-223.
- SAMADPOUR M, ONGERTH JE, LISTON J, TRAN N, NGUYEN D, WHITAM TS, WILSON RA, TARR, PI (1994) Occurrence of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork, and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 1038-1040.
- SCHMIDT H, BEUTIN L, KARCH H (1995) Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infect. Immun.*, **63**, 1055-1061.
- SEKLA L, MILLEY D, STACKIW W, SISILER J, DREW J, SARGENT D (1990) Verotoxin-producing *Escherichia coli* in ground beef-Manitoba. *Can. Dis. Wkly Rep.*, **16**, 103-105.
- STROCKBINE NA, JACKSON MP, SUNG LM, HOLMES RK, O'BRIEN AD (1988) Cloning and sequencing of the genes for Shiga toxin from *Shigella dysenteriae* type 1. *J. Bacteriol.*, **170**, 1116-1122.
- SUTHIENKUL O, BROWN JE, SERIWATANA J, TIENHONGDEE S, SAS-TRAHAHA S, ECHEVERRIA P (1990) Shiga-like-toxin-producing *Escherichia coli* in retail meats and cattle in Thailand. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 1135-1139.
- TARR PI (1995) *E. coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infection. *Clin. Infect. Dis.*, **20**, 1-8; quiz 9-10.
- TARR PI, TRAN NT, WILSON RA (1999) *Escherichia coli* O157:H7 in retail ground beef in Seattle: results of a one-year prospective study. *J. Food. Prot.*, **62**, 133-139.
- VERNZOZY-ROZAND C, BOUVET J, MONTET MP, BAVAI C, RAY-GUENIOT S, MAZURY-CRUCHAUDET C, RICHARD Y (2002) Survey of retail raw milk cheeses for Verotoxin-producing *E. coli* (VTEC) and *E. coli* O157:H7 in France (Poster). In: *102th General Meeting of American Society for Microbiology*, May, 19-20, Salt-Lake City, USA.
- WELLS JG, DAVIS BR, WACHSMUTH IK, RILEY LW, REMIS RS, SOKOLOW R, MORRIS GK (1983) Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *J. Clin. Microbiol.*, **18**, 512-520.
- WILLSHAW GA, SMITH HR, ROBERTS D, THIRDWELL J, CHEASTY T, ROWE B (1993) Examination of raw beef products for the presence of Vero cytotoxin producing *Escherichia coli*, particularly those of serogroup O157. *J. Appl. Bacteriol.*, **75**, 420-426.
- ZSCHOCK M, HAMANN HP, KLOPPERT B, WOLTER W (2000) Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in faeces of healthy dairy cows, sheep and goats: prevalence and virulence properties. *Lett. Appl. Microbiol.*, **31**, 203-208.

